ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 36, 5, 2002

УДК 576.895.1 : 595.124

ПОРАЖЕНИЕ ГОЛОВНОГО ОТДЕЛА НЕМЕРТИНЫ LINEUS RUBER ПЛАЗМОДИЯМИ ОРТОНЕКТИДЫ INTOSHIA LINEI

© А. С. Черкасов, И. И. Черкасова

Ранее считалось, что плазмодии ортонектиды *Intoshia linei* поражают все отделы тела немертины-хозяина, кроме головной лопасти, так как они не способны проникать в передний конец червя дальше области пищевода. Проведенное исследование показало, что у сильно зараженных особей *Lineus ruber* зрелые плазмодии паразита могут инвазировать и головной отдел, в котором они образуют крупные скопления. Кроме того, мы обнаружили, что плазмодии *Intoshia linei* могут локализоваться не только в покровах, паренхиме, мышцах стенки тела и гонадах немертины, но также способны поражать нервную ткань церебральных ганглиев и латеральных нервных стволов.

Ортонектиды как паразиты морских беспозвоночных известны уже достаточно давно (Giard, 1878). Но, несмотря на это, наши знания о них до сих пор очень малочисленны и фрагментарны. Филогенетические связи ортонектид с другими группами беспозвоночных на сегодняшний день также остаются неуточненными.

Трактовка жизненного цикла этих паразитов в современной литературе крайне противоречива. Согласно одной точке зрения, жизненный цикл ортонектид включает три фазы (Caullery, Lavalle, 1912; Slyusarev, Miller, 1998). В тканях немертины паразитирует многоядерный плазмодий. Для этой фазы характерны интенсивный рост и осмотрофное питание. В цитоплазме плазмодия из генеративных клеток развиваются половые особи — самцы и самки. Созрев, они покидают плазмодий и тело хозяина и некоторое время живут в воде, где и осуществляется копуляция. В самке из оплодотворенных ооцитов развиваются ресничные личинки. Личинки выходят в воду и заражают новых особей хозяина, в которых они трансформируются в плазмодии.

Вторая точка зрения была сформулирована Козловым (Kozloff, 1992, 1994, 1997), который считает, что жизненный цикл ортонектид включает только смену двух фаз: половых особей и личинок. Плазмодий, по мнению автора, не является фазой жизненного цикла, а представляет собой матрикс, формирующийся из модифицированных клеток хозяина, в котором из генеративных клеток развиваются самцы и самки ортонектид.

В качестве паразитов немертин ортонектиды впервые были описаны Макинтошем (McIntosh, 1874) из *Lineus gesserensis*. К настоящему времени известны 5 видов ортонектид, обитающие в немертинах, однако только один из них — *Intoshia linei*, паразитирующий в *Lineus ruber*, — описан с использованием стандартной методики импрегнации серебром, впервые использованной Нувелем для решения вопросов систематики этих паразитов (Nouvel, 1935). До настоящего времени считалось, что плазмодии *I. linei* поражают гонады, мышцы, железы и соединительную ткань *L. ruber*, не проникая при этом в головной отдел дальше пищевода (Haloti e. a., 1992).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Немертин *Lineus ruber* собирали в июле—августе 2001 г. во время отлива на среднем горизонте (0—1 м) литорали губы Ярнышная (ММБИ РАН, биологическая станция «Дальние Зеленцы»; 69°07′ с. ш., 36°05′ в. д., Баренцево море) между небольшими камнями и валунами, лежащими в заиленном песке.

Зараженные особи *L. ruber* легко отличимы от остальной массы немертин по наличию большого количества мелких депигментированных участков в их покровах, которые у здоровых червей имеют кирпично-красный цвет. Депигментация отдельных кожных участков обусловлена наличием в них выростов плазмодиев *Intoshia linei*, по которым созревшие половые особи паразита покидают тело хозяина (Слюсарев, Черкасов, 2001).

Червей, зараженных *I. linei*, отсаживали в чашки Петри с морской водой и содержали без пищи в темноте при температуре 7—9°. Часть немертин фиксировали до начала эмиссии половых особей паразита, тогда как других после однократной массовой эмиссии. Одного червя мы содержали в течение месяца, наблюдая за эмиссией самцов и самок *I. linei*.

Для гистологических исследований червей помещали в жидкость Буэна, после чего заключали в парапласт. Срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином Бемера и эозином. Также зараженных немертин фиксировали в 2.5 %-м глютаровом альдегиде на 0.1 М фосфатном буфере с 600 мОсм сахарозы, после чего обрабатывали 1 %-м тетроксидом осмия и заключали в Эпон 812. Полутонкие срезы получены на ультрамикротоме AO Reichert Ultracut и окрашены смесью, состоящей из 1 %-го метиленового синего, 1 %-го водного раствора азура II и 1 %-го водного раствора тетрабората натрия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 2206 собранных немертин 64 (2.9 %) оказались зараженными ортонектидой *I. linei*. Длина зараженных червей колебалась от 2 до 10 см. У подавляющего большинства инвазированных особей полностью отсутствовали половые поры, несмотря на то что середина лета является периодом размножения этого вида в Баренцевом море (Schmidt, Jankovskaia, 1938; цит. по: Rogers e. a., 1998). Первая массовая эмиссия паразитов, как правило, происходит на 2—3-й дни после сбора червей, однако этот срок сильно зависит от температуры, при которой содержатся немертины. Ранее мы считали, что процесс выхода половых особей *I. linei* из хозяина в условиях лаборатории имеет всего один пик, после которого немертина погибает в течение нескольких дней (Слюсарев, Черкасов, 2001). Однако у одного червя, которого мы содержали в течение месяца, нам удалось зарегистрировать четыре пика эмиссии самцов и самок. При этом немертина была способна передвигаться только за счет передней половины тела, так вся ее задняя часть была практически уничтожена паразитом. Тем не менее даже у этой особи мы не наблюдали выростов плазмодиев в покровах головной лопасти.

Плазмодиальные выросты *I. linei* в тегументе *L. ruber* чаще всего распределены относительно равномерно по длине тела. Иногда их количество достаточно плавно уменьшается от заднего конца к переднему (рис. 1, *Б*, *В*). Лишь у одной особи *L. ruber* плазмодиальные выросты в тегументе были локализованы только в передней трети тела, тогда как в задних двух третях тела червя присутствовали развитые половые поры (рис. 1, *А*). Нам ни разу не удалось визуально наблюдать каналы плазмодия в покровах головной лопасти инвазированных червей.

Однако гистологическое исследование сильно зараженных немертин показало, что, вопреки сложившемуся мнению, их головной отдел подвергается активному заселению плазмодиями *I. linei*, которые проникают гораздо дальше, чем можно наблюдать визуально. У некоторых червей мы обнаруживали плазмодии, содержащие сформированных половых особей, в паренхиме переднего конца тела на уровне самого

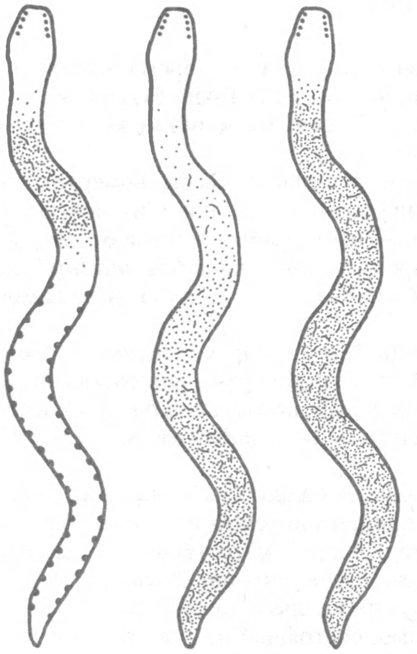

Рис. 1. Возможные варианты распределения плазмодиальных выростов в покровах *Lineus ruber*. Пояснения в тексте.

Fig. 1. Different variants of disposition of plasmodial outgrowths in the tegument of *Lineus ruber*.

начала влагалища хобота (рис. 2, 3). Основная масса плазмодиев локализуется непосредственно в строме головной лопасти и в стенках ринхоцеля (рис. 2, *А*). Также большое количество плазмодиев залегает непосредственно под покровным эпителием по всему периметру тела немертины. У плазмодиев, содержавших готовых к выходу самцов и самок, в ряде случаев имелись выросты, направленные к поверхности, однако целостность ресничного эпителия сохранялась. Мы наблюдали нарушение покровов хозяина лишь во внутренней части головных щелей, где из крупных плазмодиев начиналась эмиссия половых особей (рис. 2, *В*).

Неоднократно мы обнаруживали массу плазмодиев *I. linei* и в области мозга немертины-хозяина. Помимо того, что плазмодии зачастую практически полностью «оккупируют» церебральные органы *L. ruber*, они способны глубоко проникать в нервную ткань церебральных ганглиев немертины. В пределах мозга червя можно обнаружить крупные плазмодии со зрелыми эмбрионами, залегающие как во всех долях ганглиев, так и в поперечной комиссуре (рис. 2, *Б, Г*). Поражают плазмодии и церебральные органы (рис. 2, *Б*; 3, *В*; см. вкл.).

Берущие начало от нижних долей церебральных ганглиев латеральные нервные стволы также заселяются плазмодиями. Последние могут не только изменять их форму стволов, но и насквозь их пронизывать (рис. 2, *Д, Е*; 3, *А, Г, Е*). Тем не менее на сегодняшний день мы не можем однозначно сказать, нарушают ли плазмодии целостность проводящих путей в нервных тканях хозяина или просто проникают между нервными волокнами, раздвигая их. Стенки кровеносных лакун, расположенных за ганглиями мозга между церебральными органами, также служат местом поселения плазмодиев *I. linei* (рис. 3, *Б*).

В теле *L. ruber* помимо крупных плазмодиев, содержащих зрелых самцов и самок, мы неоднократно обнаруживали одиночные клетки паразита. Они залегают непосредственно в тканях червя, как правило, недалеко от больших плазмодиев (рис. 3, *Г—Е*). Морфологически эти крупные клетки очень похожи на генеративные клетки, находящиеся в плазмодиях, и отличаются от мелких клеток эмбрионов половых особей. Они содержат мало цитоплазмы и имеют относительно большие ядра пузырьковидного типа, сопоставимые по размеру с ядрами клеток хозяина. В некоторых случаях мы обнаруживали в тканях немертины небольшие группы таких клеток. Их паразитарная природа не вызывает сомнений, однако на данный момент однозначно судить об их функциях не представляется возможным. Вероятно, они имеют непосредственное отношение к размножению плазмодиев и агломерации паразитов в теле хозяина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Плазмодии *I. linei* размножаются в теле *L. ruber* и постепенно поражают ткани всех его отделов. Ткани головной лопасти немертины также становятся местом поселения большого количества плазмодиев. По-видимому, они проникают туда вторично в результате интенсивной эндогенной агломерации паразитов в теле хозяина. По сравнению с другими отделами тела это происходит достаточно поздно. По-видимому, к тому времени, когда в центральном и хвостовом отделах червя начинается массовый выход половых особей паразита, более молодые плазмодии, локализующиеся в головной лопасти, еще не успевают сформировать цитоплазматические выросты, по которым осуществляется эмиссия самок и самцов. Именно поэтому у обследованных нами особей *L. ruber* мы не обнаружили депигментированных участков в покровах переднего конца тела.

Бесспорным является тот факт, что у сильно зараженных хозяев имеет место генерализованное поражение мозга и латеральных нервных стволов плазмодиями *I. linei*. Приняв это во внимание, мы можем допустить, что поведение таких немертин может отличаться от поведения здоровых особей. Собирая материал в природе в течение многих лет, мы до сих пор не замечали каких-либо особенностей распределения зараженных немертин в пределах литорали, что характерно для многих беспозвоночных, зараженных паразитами. Однако для решения этого вопроса необходимы специальные исследования, так как вертикальное распределение *L. ruber* в пределах литорали изучено плохо, а сами немертины ведут весьма скрытный образ жизни, часто скапливаясь во время отлива в углублениях под большими камнями, где образуют тесно сплетенные ослизненные клубки, состоящие иногда из нескольких десятков особей.

Исследования поддержаны грантом администрации Санкт-Петербурга М01-2.6Д-482.

Список литературы

Слюсарев Г. С., Черкасов А. С. Анализ возможных механизмов выхода ортонектид из их хозяев // Паразитология. 2001. Т. 35, вып. 4. С. 338—343.

Caullery M., Lavallee A. Recherches sur le cycle evolutif des Orthonectides // Bull. Sci. France-Belgique. 1912. T. 46. P. 139—171.

Giard A. On the Orthonectida, a new class of animals parasitic on Echinodermata and Turbellaria // Ann. Mag. Natur. Hist. 1878. Ser. 5. Vol. 1. P. 181—183.

Haloti S., Vernet G., Bierne J. Reproduction asexuee de l'endoparasite Rhopalura linei (Orthonectides) au cours de la contamination experimentale de l'hote, l'Heteronemerte Lineus ruber // Bull. Soc. Zool. France. 1992. T. 117, N 2. P. 174—175.

Kozloff E. N. Phyla Placozoa, Dicyemida, and Orthonectida // Invertebrates. Ed. Kozloff E. N. 1992. P. 127—199.

Kozloff E. N. The structure and origin of the plasmodium of Rhopalura ophiocomae (phylum Orthonectida) // Acta Zool. (Stockholm). 1994. Vol. 75. P. 191—199.

Kozloff E. N. Studies on the so-called plasmodium of Ciliocincta sabellariae (phylum Orthonectida) with notes on an assotiated microsporan parasite // Cah. Biol. Mar. 1997. T. 38, N 3. P. 151—159.

McIntosh W. C. A monograph of the British Annelids. Part I. The Nemerteans. London: The Ray Society, 1874. 215 p.

Nouvel H. Application des techniques d'impregnation argentique a l'etude systematique des Orthonectides // Bull. Biol. 1935. T. 69. P. 503—507.

Rogers A. D., Thorpe J. P., Gibson R., Norenburg J. L. Genetic differentiation of populations of the common intertidial nemerteans Lineus ruber and Lineus viridis (Nemertea, Anopla) // Hydrobiologia. 1998. Vol. 79, N 4. P. 1—11.

Slyusarev G. S., Miller D. M. Fine structure of the mature plasmodium of Intoshia variabili (Orthonectida), a parasite of the platyhelminth Macrorhynchus crocea // Acta. Zool. (Stockholm). 1998. Vol. 79, N 4. P. 319—327.

СПбГУ, СПб., 199034

Поступила 15.03.2002

AFFECTION OF CEPHALIC REGION IN THE NEMERTEAN LINEUS RUBER BY THE ORTHONECTID INTOSHIA LINEI

A. S. Cherkasov, I. I. Cherkasova

Key words: Orthonectida, *Intoshia linei*, invasion, plasmodia proliferation, nervous system.

SUMMARY

Previous investigators believed, that the plasmodia of *Intoshia linei* can affect all part of nemerteans body except the cephalic lobe. Our results indicate that in strongly infected worms mature plasmodia can settle inside of the cephalic region and form the large conglomerates. Common places of plasmodia localization in hosts are not only the tegument, connective tissue, gonads, muscles of body wall and proboscis, but also the nervous tissue. We found a lot of the mature plasmodia in all four lobes of the nemerteans brain and in the lateral nerve trunks. Furthermore the plasmodia can settle in the cerebral organs, in the walls of blood lacunae and rhynchcoel.

In spite of the strong invasion of the cephalic lobe we have never observed a plasmodial outgrowths in the tegument of this region. This phenomena can be explained by the assumption, that plasmodia usually intrude into the cephalic region relatively late and have no time to form outgrowths up to the moment when starts the emission of adult males and females in the rest parts of nemertean body.

Moreover, single parasite cells were repeatedly found in the host tissue near the mature plasmodium. These cells had few cytoplasm and large vesicular nuclei, which were very similar in size to the nuclei of the host cells. General morphology of single cells was very similar to the generative cells of the plasmodium. At present, the function of these cells is not evident, but we believe, they appearance is concerned with the proliferation of plasmodiuma and agglomeration of the parasite in the body of *Lineus ruber*.

Вклейка к ст. А. С. Черкасова

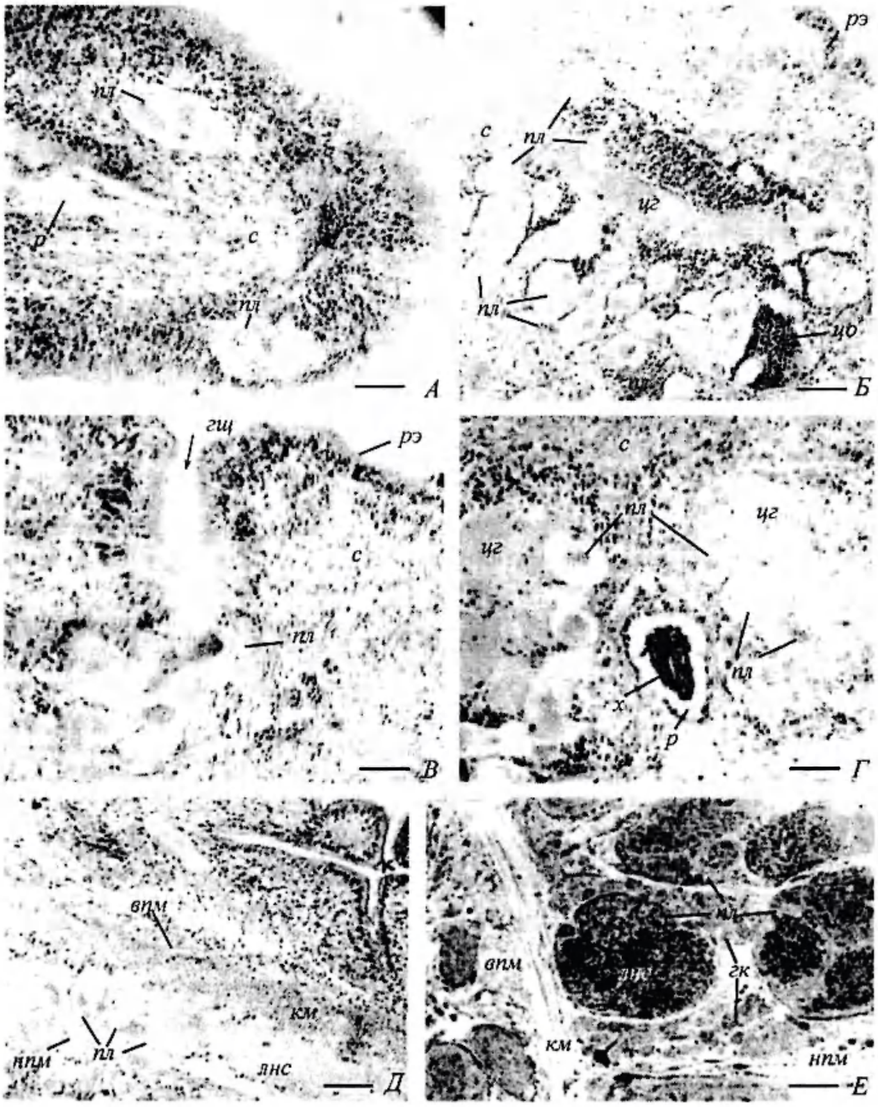

Рис. 2. Плазмодии *Intoshia linei* в теле *Lineus ruber.*

А — плазмодии в переднем конце тела; *Б* — локализация плазмодиев вокруг церебрального ганглия; *В* — плазмодии в области головной щели; *Г* — поражение церебрального ганглия; *Д*, *Е* — проникновение плазмодиев в латеральный нервный ствол; *впм* — внутренняя продольная мускулатура; *гк* — глиальные клетки; *гщ* — головная щель; *км* — кольцевая мускулатура; *лнс* — латеральный нервный ствол; *нпм* — наружная продольная мускулатура; *пл* — плазмодий; *р* — ринхоцель; *рэ* — ресничный эпителий; *с* — строма; *х* — хобот; *цг* — церебральный ганглий; *цо* — церебральный орган. Масштаб: *А*—*Д* — 50 мкм; *Е* — 10 мкм.

Fig. 2. Plasmodia of *Intoshia linei* in the body of *Lineus ruber.*

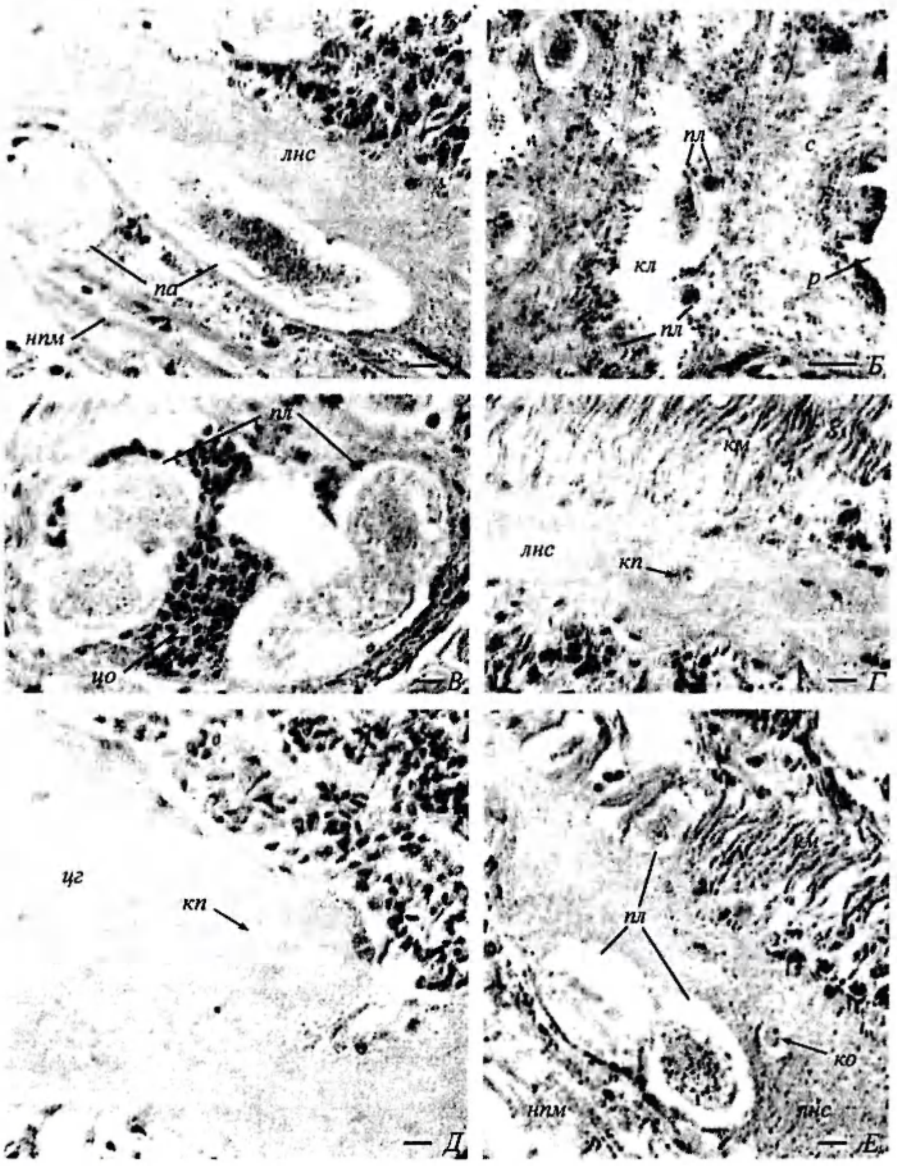

Рис. 3. Заражение плазмодиями *Intoshia linei* разных органов *Lineus ruber*.

А — участки плазмодиев со зрелыми половыми особями в латеральном нервном стволе; *Б* — плазмодии в «стенках» и в просвете кровеносной лакуны; *В* — поражение церебрального органа; *Г—Е* — плазмодии и отдельные генеративные клетки паразита в церебральном ганглии и латеральных нервных стволах; *кл* — кровеносная лакуна; *кп* — клетка паразита. Масштаб: *А*, *В—Е* — 10 мкм; *Б* — 50 мкм.

Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 3. Distribution of *Intoshia linei* plasmodia in different organs of *Lineus ruber*.